

L2 ANSWER 1 OF 3 WPINDEX COPYRIGHT 2006 THE THOMSON CORP on STN
AN 2002-174635 [23] WPINDEX
DNC C2002-054415

TI Collagen production promoter as skin cosmetic for use in food/beverage
products, contains extract of Saussurea genus as active ingredient.

DC D13

PA (MARU-N) MARUZEN SEIYAKU KK; (ARUS-N) ARUSOA HONSHA KK
CYC 1

PI JP 2001316240 A 20011113 (200223) * 9 A61K007-48 <--
JP 3608078 B2 20050105 (200504) 13 A61K007-48

ADT JP 2001316240 A JP 2000-138739 20000511; JP 3608078 B2 JP 2000-138739
20000511

FDT JP 3608078 B2 Previous Publ. JP 2001316240

PRAI JP 2000-138739 20000511

IC ICM A61K007-48

ICS A23L001-30; A61K007-00; A61K035-78; A61P005-30; A61P017-16;
A61P043-00

AB JP2001316240 A UPAB: 20020411

NOVELTY - A collagen production promoter contains an extract of Saussurea
genus as an active ingredient.

DETAILED DESCRIPTION - INDEPENDENT CLAIMS are also included for the
following:

(i) An estrogen effective agent containing Saussurea genus extract as
an active ingredient;

(ii) Skin cosmetic having collagen production promoting effect and/or
estrogenic effect which comprises Saussurea genus as an active ingredient;
and

(iii) Foodstuff which is compounded with estrogen effective agent.

ACTIVITY - None given.

MECHANISM OF ACTION - Promotes collagen production. A human
fibroblast was seeded on a plate and cultivated at 37 deg. C under 5%
carbon dioxide for several days using a culture medium. beta -amino
propionitrile and (3H) -proline were added and cultivated for 24 hours.
Pepsin/acetic acid solution was added to the culture solution and digested
for 16 hours under 4 deg. C. A carrier was added to the digestive liquor
and precipitated with 0.7M salt. The precipitate was again re-precipitated
by adding 4.2M salt. The rate of promotion of collagen production of
precipitate was measured and was found to be 172.2 plus or minus 2.6 in
sample containing ethanol/water extract of Saussurea leaves. The estrogen
effect of the sample was found to be 122.3 plus or minus 1.0.

USE - As cosmetic and food/beverage having skin cosmetic effect such

as moisture retention.

ADVANTAGE - The collagen production promoter has excellent anti-aging effect and effectively prevents aging of skin. The skin cosmetics containing the collagen production promoter has favorable texture while applying on the skin.

Dwg.0/0

FS CPI

FA AB

MC CPI: D03-H01T2; D08-B09A1

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-316240

(P2001-316240A)

(43) 公開日 平成13年11月13日 (2001. 11. 13)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード* (参考)
A 6 1 K 7/48		A 6 1 K 7/48	4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B 4 C 0 8 3
A 6 1 K 7/00		A 6 1 K 7/00	K 4 C 0 8 8
35/78		35/78	T
A 6 1 P 5/30		A 6 1 P 5/30	
審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 9 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2000-138739(P2000-138739)

(22) 出願日 平成12年 5 月11日 (2000. 5. 11)

(71) 出願人 591082421

丸善製薬株式会社

広島県尾道市向東町14703番地の10

(72) 発明者 川嶋 善仁

広島県芦品郡新市町相方1089番地の8 丸

善製薬株式会社総合研究所内

(72) 発明者 田中 博子

広島県芦品郡新市町相方1089番地の8 丸

善製薬株式会社総合研究所内

(74) 代理人 100108833

弁理士 早川 裕司 (外 1 名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 コラーゲン産生促進剤、エストロゲン様作用剤、皮膚化粧品および美容食品

(57) 【要約】

【課題】 真皮層線維芽細胞におけるコラーゲンの産生を促進するのに有効な物質、および皮膚の老化防止または改善作用を有するエストロゲンと同様の作用を有する物質を見出し、それを有効成分としたコラーゲン産生促進剤、エストロゲン様作用剤、皮膚化粧品および美容食品を提供する。

【解決手段】 Saussurea属に属する植物、特にSaussurea involucrate (Kar.etKir.) Sch. Blp. からの抽出物を、コラーゲン産生促進剤、エストロゲン様作用剤、皮膚化粧品または美容食品に含有せしめる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 Saussurea属に属する植物からの抽出物を有効成分として含有するコラーゲン産生促進剤。

【請求項2】 Saussurea属に属する植物が、Saussurea involucrate (Kar. et Kir.) Sch. Blp. である請求項1に記載のコラーゲン産生促進剤。

【請求項3】 Saussurea属に属する植物からの抽出物を有効成分として含有するエストロゲン様作用剤。

【請求項4】 Saussurea属に属する植物が、Saussurea involucrate (Kar. et Kir.) Sch. Blp. である請求項3 10に記載のエストロゲン様作用剤。

【請求項5】 Saussurea属に属する植物から抽出されるコラーゲン産生促進作用および／またはエストロゲン様作用を有する抽出物を含有する皮膚化粧料。

【請求項6】 Saussurea属に属する植物から抽出されるエストロゲン様作用を有する抽出物を含有する美容食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、真皮層の線維芽細胞によるコラーゲンの産生を活性化させる作用を有するコラーゲン産生促進剤、女性ホルモンの一種であるエストロゲンと同様の作用を有するエストロゲン様作用剤、ならびにコラーゲン産生促進作用またはエストロゲン様作用を有する皮膚化粧料および美容食品に関するものである。

【0002】

【従来の技術】人の皮膚の表皮および真皮は、表皮細胞、線維芽細胞、およびこれらの細胞の外にあって皮膚構造を支持するエラスチン、コラーゲン等の細胞外マトリックスにより構成されている。若い皮膚においては線維芽細胞の増殖は活発であり、またエラスチン、コラーゲン等の皮膚組織の相互作用が恒常性を保つことにより水分保持、柔軟性、弾力性等が確保され、肌は外見的にも張りや艶があってみずみずしい状態に維持される。

【0003】ところが、紫外線、空気の著しい乾燥、過度の皮膚洗浄等の外的因子の影響や加齢の進行により、細胞外マトリックスの主要構成成分であるエラスチンは分解・変質を起こし、またコラーゲンは産生量が減少するとともに架橋による弾力低下を起こす。これにより、皮膚の保湿機能や弾力性は低下し、角質は異常剥離を始め、その結果、肌は張りや艶を失い、荒れ、シワ、くすみ等の老化症状を呈するようになる。

【0004】上記機構による皮膚の老化を防止・改善するために最も一般的に行われているのは、天然保湿因子(NMF)である糖、アミノ酸、有機酸、ピリドンカルボン酸塩、コラーゲン、ヒアルロン酸等のムコ多糖類、グリセリン、1, 3-ブチレングリコール等の保湿作用を有する物質を塗布して、皮膚の保湿性を高めることである。

【0005】しかしながら、このような保湿剤は表皮の角質の状態を改善するだけのものであって、真皮内の張力保持機構まで改善することは期待できない。また、保湿剤は皮膚からの水分蒸発を遅くするものであるから、概して使用感が悪く、長期間使用すると皮膚障害を起こすことさえある。

【0006】一方、加齢に伴う皮膚老化の一因は、女性ホルモンの一種であるエストロゲンの分泌が減退することにある。エストロゲンは成人女性の健康維持に深く関わっており、その分泌不足は種々の内科的疾患を招くほか、肌の過敏症、弾力性低下、潤いの減少等、好ましくない肌の変化の原因となることが知られている。

【0007】そこで、エストロゲンの分泌が衰える更年期以後の女性に対して、エストロゲンと同様の作用をする物質を経皮的または経口的に投与することが行われている。このようなエストロゲン様作用剤としては、従来より、ステロイド系エストロゲン、非ステロイド系エストロゲン、フラボン系化合物等が使われている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明の第1の目的は、真皮層線維芽細胞におけるコラーゲンの産生を促進するのに有効な物質を見出し、それを有効成分としたコラーゲン産生促進剤を提供することにある。本発明の第2の目的は、皮膚の老化防止または改善作用を有するエストロゲンと同様の作用を有する物質を見出し、それを有効成分としたエストロゲン様作用剤を提供することにある。本発明の第3の目的は、コラーゲン産生促進作用および／またはエストロゲン様作用を有する皮膚化粧料を提供することにある。本発明の第4の目的は、エストロゲン様作用を有する美容食品を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するために、本発明のコラーゲン産生促進剤およびエストロゲン様作用剤は、Saussurea属に属する植物からの抽出物を有効成分として含有することを特徴とし、本発明の皮膚化粧料は、Saussurea属に属する植物から抽出されるコラーゲン産生促進作用および／またはエストロゲン様作用を有する抽出物を含有することを特徴とし、本発明の美容食品は、Saussurea属に属する植物から抽出されるエストロゲン様作用を有する抽出物を含有することを特徴とする。上記コラーゲン産生促進剤、エストロゲン様作用剤、皮膚化粧料および美容食品において、Saussurea属に属する植物は、Saussurea involucrate (Kar. et Kir.) Sch. Blp. であるのが好ましい。

【0010】なお、本明細書における「抽出物」とは、抽出処理によって得られる抽出液、抽出液の希釈液もしくは濃縮液、抽出液を乾燥して得られる乾燥物、またはこれらの粗精製物もしくは精製物のいずれをも含むものとする。

【0011】

【発明の実施の形態】以下、本発明について詳細に説明する。

【0012】〔コラーゲン産生促進剤・エストロゲン様作用剤〕本発明のコラーゲン産生促進剤およびエストロゲン様作用剤は、それぞれキク科植物の一種である *Saussurea* 属に属する植物の抽出物を有効成分とする。

【0013】*Saussurea* 属に属する植物としては、例えば、*Saussurea involucrate* (Kar. et Kir.) Sch. BIp.

(漢方名：雪蓮)、*Saussurea gnaphaloides* (Royle) Sch. -Bip. (漢方名：鼠▲麴▼雪兔子)、*Saussurea stella* Maxim. (漢方名：星状風毛菊)、*Saussurea medusa* Maxim.、*Saussurea laniceps* Hand. -Mazz.、*Saussurea tridactyla* Sch. -Bip. ex Hook. f.、*Saussurea namikawae* Kitam.、*Saussurea gossypiphora* D. Don.、*Saussurea nishiokae* Kitam.、*Saussurea leucoma* Diels.、*Saussurea quercifolia* W. W. Smith.、*Saussurea eriocephala* Franch.、*Saussurea kingii* J. R. Drumm. ex C. E. C. Fisch.、*Saussurea simpsoniana* (Field. et Gardn.) Lipsch.、*Saussurea obvallata* (DC.) Edgew.、*Saussurea wettsteiniana* Hand. -Mazz.、*Saussurea globosa* Chen.、*Saussurea longifolia* Franch. 等が挙げられる。これら *Saussurea* 属に属する植物は、それぞれ単独で用いることもできるし、異なる種のものを混合して用いることもできる。これら *Saussurea* 属に属する植物の中でも、*Saussurea involucrate* (Kar. et Kir.) Sch. BIp. がコラーゲン産生促進作用またはエストロゲン様作用の点、あるいは入手容易性の点で好ましい。

【0014】なお、*Saussurea involucrate* (Kar. et Kir.) Sch. BIp. は中国の新疆自治区、*Saussurea gnaphaloides* (Royle) Sch. -Bip. は中国の新疆自治区、四川省、チベット自治区、*Saussurea stella* Maxim. は中国の青海省、甘肅省、四川省、チベット自治区、*Saussurea medusa* Maxim. は中国の四川省、雲南省、青海省、チベット自治区、香港、ネパール、*Saussurea laniceps* Hand. -Mazz. は中国の四川省、チベット自治区、*Saussurea tridactyla* Sch. -Bip. ex Hook. f. は中国のチベット自治区、*Saussurea namikawae* Kitam. は中国のチベット自治区、*Saussurea gossypiphora* D. Don はネパール、*Saussurea nishiokae* Kitam. はネパール、*Saussurea leucoma* Diels は中国の雲南省、*Saussurea quercifolia* W. W. Smith は中国の四川省、雲南省、*Saussurea eriocephala* Franch. は中国の雲南省、*Saussurea kingii* J. R. Drumm. ex C. E. C. Fisch. は中国のチベット自治区、*Saussurea simpsoniana* (Field. et Gardn.) Lipsch. はネパール、*Saussurea obvallata* (DC.) Edgew. は中国の雲南省、四川省、チベット自治区、*Saussurea wettsteiniana* Hand. -Mazz. は中国の雲南省、*Saussurea globosa* Chen は中国の四川省、*Saussurea longifolia* Franch. は中国の雲南省で入手可能である。

【0015】上記 *Saussurea* 属に属する植物の部位とし

ては、地上部分を用いるのが好ましく、特に葉および／または茎を用いるのが好ましい。また、抽出原料とする *Saussurea* 属に属する植物は、採取後ただちに乾燥し粉碎したものが適当である。乾燥は、天日で行ってもよいし、通常用いられる乾燥機を使用して行ってもよい。

【0016】抽出方法は特に限定されるものではなく、常法に従って行えばよい。抽出溶媒としては、極性溶媒、例えば、水、メタノール、エタノール、プロパノール、1, 3-ブチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール等の1種または2種以上の混合物を使用するのが好ましく、特に水を使用するのが好ましい。上記極性溶媒による抽出を行う前に、ヘキサン、ベンゼン等の非極性溶媒を用いた脱脂処理を施してもよく、かかる前処理を行うことにより、極性溶媒による抽出処理を効率良く行うことができる。

【0017】抽出処理は、室温ないし還流加熱下において任意の装置を用いて行うことができる。一般的には、抽出溶媒を満たした処理槽に抽出原料の乾燥・粉碎物を投入し、適宜攪拌しながら可溶性成分を抽出溶媒に溶出させた後、濾過して抽出残渣を除き、抽出液を得る。このとき、抽出温度は80～95℃とするのが好ましく、抽出時間は1～4時間とするのが好ましい。

【0018】得られた抽出液は、そのままの状態でもコラーゲン産生促進剤またはエストロゲン様作用剤に使用することができるが、濃縮液またはその乾燥物としたもののほうが利用しやすい。また、*Saussurea* 属に属する植物の抽出物は特有の匂いと味を有するため、生理活性上の低下を招かない範囲で脱色、脱臭等を目的とする精製を行ってもよいが、皮膚化粧品や美容食品に使用する場合には、一般的に大量に配合するものではないから、精製を行うことなく使用しても実用上支障はない。

【0019】以上のようにして得られる抽出物（以下「*Saussurea*抽出物」という。）は、コラーゲン産生促進作用およびエストロゲン様作用を有する。すなわち、*Saussurea*抽出物は、経皮的に吸収されて線維芽細胞に達し、コラーゲンの産生を活性化して真皮層に十分なコラーゲンが補給されるようにする作用を有するとともに、エストロゲン分泌の衰えによる肌の老化を防止し改善する作用を有する。

【0020】上記 *Saussurea*抽出物は、本発明のコラーゲン産生促進剤またはエストロゲン様作用剤としてそのまま用いることもできるし、製剤化することもできる。製剤化する場合、保存や取扱いを容易にするために、デキストリン、シクロデキストリン等のキャリアー、その他任意の助剤を上記 *Saussurea*抽出物に加えてもよい。また、製剤化する場合の剤形に制限はなく、粉末状、顆粒状、錠剤状等、任意の剤形のものとすることができる。

【0021】本発明のコラーゲン産生促進剤は、経皮的に吸収されて真皮層の線維芽細胞に達し、真皮層線維芽

細胞におけるコラーゲンの産生を促進し、老化した皮膚を真に若返らせることができる。また、本発明のコラーゲン産生促進剤はエストロゲン様作用をも併有するため、経口的に吸収されることにより、皮膚の老化防止と改善に多面的に作用して、皮膚を内部から活性化して若々しい状態に保つことができる。

【0022】一方、本発明のエストロゲン様作用剤においても、経口的に吸収されることにより、エストロゲン分泌の衰えによる皮膚の老化を防止し、改善させることができる。

【0023】〔皮膚化粧料〕上述したSaussurea抽出物は、皮膚に適用した場合の使用感と安全性に優れているため、皮膚化粧料に配合するのに好適である。本発明の皮膚化粧料は、上記Saussurea抽出物を含有し、コラーゲン産生促進作用および／またはエストロゲン様作用を有する。もちろん、製剤化した本発明のコラーゲン産生促進剤および／またはエストロゲン様作用剤を含有するものも本発明の皮膚化粧料の範囲に含まれる。

【0024】皮膚化粧料の種類としては、例えば、軟膏、クリーム、乳液、ローション、パック、入浴剤等が挙げられ、その皮膚化粧料におけるSaussurea抽出物の好適な配合率は、約0.01～10重量%である。

【0025】本発明の皮膚化粧料には、コラーゲン産生促進作用および／またはエストロゲン様作用の妨げにならない限り、皮膚化粧料の製造に通常使用される各種主剤、助剤等を配合することができる。なお、本発明の皮膚化粧料は、皮膚の老化防止・改善に関しSaussurea抽出物のみが主剤となるものに限られるわけではない。

【0026】本発明の皮膚化粧料において、Saussurea抽出物とともに構成成分として利用可能なものとしては、例えば、グリセリン、コラーゲン、ヒアルロン酸およびその塩、コンドロイチン硫酸およびその塩、キチン、キトサン等の保湿剤；パラジメチルアミノ安息香酸アミル等の紫外線吸収剤；グリセリン脂質、スフィンゴリン脂質等の複合脂質； β -カロチン、油溶性甘草エキス、リコカルコンA、バイカリン、バイカレインその他の活性酸素消去作用を有する物質；アズレン、グリチルリチン酸およびその塩類、グリチルレチン酸およびその誘導体、酸化亜鉛等の抗炎症作用物質；リボフラビン、トコフェロール、アスコルビン酸、葉酸等のビタミンおよびその誘導体類；ホホバ油、ラノリン、流動パラフィン、スクワラン、イソステアリルアルコール等の油性成分；ステアリル硫酸ナトリウム、セチル硫酸ジエタノールアミン、ステアリン酸グリセリン等の界面活性剤；エリソルビン酸ナトリウム等の酸化防止剤；エチルパラベン等の防腐剤；オウバク抽出物、カミツレ抽出物、カンゾウ根抽出物、ローズマリー抽出物、マロニエ抽出物等のコレステロール類；植物ステロール類；リポ蛋白質類；ビフィズス菌培養物、乳酸菌培養物、酵母抽出物、ブクリョウ抽出物等の微生物由来成分；褐藻

抽出物、紅藻抽出物等の藻類抽出物； γ -オリザノール等の血行促進剤；硫黄等の抗脂漏剤；香料；アルコール；カルボキシポリマー等の増粘剤；チタンイエロー、ベニバナその他着色料等が挙げられる。

【0027】〔美容食品〕上述したSaussurea抽出物は、消化管で消化されるようなものではないことが確認されたため、食品として経口摂取するのに好適である。本発明の美容食品は、上記Saussurea抽出物を含有し、エストロゲン様作用を有する。もちろん、製剤化した本発明のエストロゲン様作用剤を含有するものも本発明の美容食品の範囲に含まれる。ここで、美容食品とは、皮膚の老化防止または改善を図ることを目的とした飲食物をいうものとする。

【0028】本発明の美容食品は、上記Saussurea抽出物を、その活性を妨げないような任意の食品に配合したものであってもよいし、上記Saussurea抽出物を主成分とする食品（栄養補助食品）であってもよい。ここにいう任意の食品には、例えば、麺類、パン、米飯、餅等の穀物加工品、マーガリン、マヨネーズ等の油脂加工品、ハム、ソーセージ等の食肉加工品、かまぼこ、ちくわ等の水産加工品、ヨーグルト、バター、チーズ、アイスクリーム等の乳製品、ジャム等の果実加工品、漬物等の野菜加工品、チョコレート、クッキー、ケーキ、キャンディー、チューインガム、ゼリー等の菓子類、ジュース、コーヒー、紅茶、緑茶、ウーロン茶、炭酸飲料、牛乳等の各種飲料、醤油、ソース、みりん等の調味料など、あらゆる形態の食品が含まれる。

【0029】本発明の美容食品におけるSaussurea抽出物の配合量は、当該美容食品の一般的な摂取量を考慮して、標準的なSaussurea抽出物の成人1日当たりの摂取量が約1～1000mgになるように設定するのが好ましい。

【0030】以上説明した本発明のコラーゲン産生促進剤、エストロゲン様作用剤、皮膚化粧料および美容食品は、ヒトに対して好適に適用されるものであるが、本発明の作用効果が奏される限り、ヒト以外の動物に対して適用されてもよい。

【0031】

【実施例】以下、実施例等により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例等に限定されるものではない。

【0032】〔製造例1〕抽出原料としてSaussurea involucre (Kar. et Kir.) Sch. Blp. の葉および茎の乾燥・粗砕物300gを、表1に示す抽出溶媒2000mlに投入し、穏やかに攪拌しながら3時間、70℃に保った後、濾過した。濾液を40℃で減圧下に濃縮し、さらに減圧乾燥機で乾燥して抽出物（粉末状）を得た。4種類の抽出溶媒を用いて上記抽出処理を行ったところ、得られた抽出物（試料a～d）の収率は表1のとおりであった。なお、抽出溶媒が混合物の場合、以下に示す混

合比は重量基準によるものである。

* * 【0033】

〔表1〕

試料	抽出溶媒	抽出物収率（重量％）
a	水	18
b	エタノール-水（1：1混合液）	11
c	エタノール	8
d	プロパノール-水（1：1混合液）	11

【0034】〔製造例2〕製造例1で用いたものと同じ抽出原料の乾燥・粗砕物300gを1、3-ブチレングリコール-水（1：1混合液）2000mlに投入し、10 攪拌しながら80℃で3時間保持したのち濾過して、固形分濃度2.0重量％の抽出液（試料e）1560mlを得た。

【0035】〔製造例3〕抽出溶媒をグリセリン-水（1：1混合液）に変更したほかは製造例2と同様にし、固形分濃度1.6重量％の抽出液（試料f）1520mlを得た。

【0036】〔製造例4〕抽出溶媒をプロピレングリコール-水（1：1混合液）に変更したほかは製造例2と同様にし、固形分濃度1.3重量％の抽出液（試料g）1490mlを得た。

【0037】〔試験例1〕

コラーゲン産生促進作用の試験

製造例1～4による試料a～gについて、Websterらの方法（Anal. Biochem., Vol. 96, 220, 1979）によりコラーゲン産生促進率を求めた。具体的には、以下のようにして試験を行った。

【0038】ヒトの線維芽細胞をプレートに播種し、37℃、5％二酸化炭素下、試料添加培地（試料濃度：200ppm）で数日間培養した後、β-アミノプロピオニトリルと³H-プロリンとを添加し、更に24時間培養した。当該培養液全体にペプシン/酢酸溶液を加えて4℃下で16時間消化し、次いでこの消化液にキャリアーを加えて0.7M食塩で沈殿させ、更に中性条件下で再溶解させて、4.2M食塩で再沈殿させた。得られた沈殿物を20％エタノールで洗浄した後、その沈殿物の放射活性を測定した。

【0039】コラーゲン産生促進率は、試料無添加時の放射活性を100％として算出した。この試験の結果を表2に示す。

【0040】〔表2〕

試料	コラーゲン産生促進率
試料a	160.3±2.3
試料b	172.2±2.6
試料c	174.8±4.9
試料d	164.6±5.2
試料e	174.6±3.2
試料f	176.8±1.9
試料g	171.1±1.2

【0041】表2に示される結果より、上記試料a～g

により線維芽細胞においてコラーゲンの産生が促進されることが確認された。

【0042】〔試験例2〕

エストロゲン様作用の試験

製造例1～4による試料a～gについて、エストロゲン依存性細胞の増殖に対する影響を調べるThomasらの方法（In Vitro Cell. Dev. Biol. 28A, 595-602, 1992）により、エストロゲン様作用の試験を行った。具体的には、以下のようにして試験を行った。

【0043】ヒト乳ガン由来のMCF-7細胞を75cm² フラスコでコンフルエント様になるまで培養し、トリプシン処理によりこのMCF-7細胞を集め、10％活性炭処理したFBS、1％NEAAおよび1mMピルビン酸ナトリウムを含みフェノールレッドを含まない最少栄養培地を用いて、3×10⁴ 個/mlに調整した。

【0044】得られたMCF-7細胞を24穴マイクロプレートに0.9mlづつ播種し、これを定着させるために37℃、5％二酸化炭素下で培養した。6時間後（0日目）、フェノールレッドを含まない最少栄養培地で終濃度の10倍の濃度（125ppm）に調製した試料溶液100μlを上記マイクロプレートに添加し、培養を続けた。

【0045】培養開始から6日目、MCF-7細胞の細胞数を測定するために、上記最少栄養培地をMTT培地に交換し、2-プロパノールを添加することで細胞内に生成したブルーホルマゼンを抽出し、570nmの吸光度を測定した。それとともに、濁度として650nmの吸光度を測定し、両者の差をもってブルーホルマゼン量とした。陽性対照としては、0.02ppmエチルエストラジオールを使用した。エストロゲン様作用（エストロゲン依存性増殖作用）の強さは、試料無添加時の吸光度を100％として算出した。この試験の結果を表3に示す。

【0046】〔表3〕

試料	エストロゲン様作用の強さ
試料a	113.0±2.2
試料b	122.3±1.0
試料c	105.9±1.2
試料d	109.1±1.6
試料e	118.7±1.1
試料f	114.9±1.3
試料g	110.0±1.3

【0047】表3に示される結果より、上記試料a～g

はエストロゲン様作用を有することが確認された。

*す。

【0048】〔試験例3〕上記試料bを配合した乳液B

【0049】

を常法に従って調製した。この乳液Bの組成を以下に示*

試料b	1. 0 g
セチルアルコール	0. 5 g
ミツロウ	2. 0 g
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (10E.0)	1. 0 g
モノステアリン酸グリセリル	1. 0 g
プロピレングリコール	5. 0 g
エタノール	3. 0 g
パラオキシ安息香酸メチル	0. 3 g
香料	0. 03 g
精製水	残部 (全量を100mlとする)

【0050】上記乳液Bと、上記試料bを含まないほかは上記と同じ組成からなる比較乳液Cとについて、下記の評価試験を行った。

被験者：22～43歳の女性多数の中から、皮溝・皮丘が消え、広範囲の角質がめくれている者10名、皮溝・皮丘が不鮮明で、角質が部分的にめくれている者9名、皮溝・皮丘が認められるが平坦である者1名を選抜して被験者とした。

※分には比較乳液Cを、朝夕各1回、30日間塗布させた。

【0051】〔判定1：肌荒れ改善効果〕塗布試験終了後、シルフロ (FLEXICL DEVELOPMENTS LTD製) によるレプリカ法を用いて顔のレプリカをとり、50倍の顕微鏡で皮紋の状態および角質剥離の状態を観察し、下記評価基準で肌の状態を判定した。判定結果を表4に示す。

【0052】

塗布試験：各被験者に、顔の右半分には乳液Bを、左半※

評価	評価
1	皮溝・皮丘が消え、広範囲の角質がめくれている。(肌荒れ状態)
2	皮溝・皮丘が不鮮明。角質が部分的にめくれている。(肌荒れ状態)
3	皮溝・皮丘が認められるが平坦である。(普通肌)
4	皮溝・皮丘が鮮明である。(比較的美しい肌)
5	皮溝・皮丘がきわめて鮮明で整っている。(美しい肌)

【0053】

〔表4〕

評価	試験開始前	乳液B塗布部	比較乳液C塗布部
1	10名	0名	9名
2	9名	0名	8名
3	1名	5名	1名
4	0名	12名	2名
5	0名	3名	0名

【0054】表4に示されるように、乳液Bを塗布した領域は、比較乳液Cを塗布した領域に比べて顕著に肌荒れが改善された。

★について、乳液Bと比較乳液Cとを比較した場合の優劣を被験者全員に質問した。回答の集計結果を表5に示す。

【0055】〔判定2・官能評価〕使用感と肌への効果★40

【0056】

〔表5〕

評価項目	乳液Bが良い	比較乳液Cが良い	優劣なし
肌へのなじみ	15名	3名	2名
しっとり感	18名	1名	1名
肌へののび	17名	2名	1名
肌荒れ改善の満足感	17名	1名	2名
肌色改善の満足感	14名	2名	4名
シワの数と深さの改善	18名	1名	1名

【0057】表5に示される結果より、官能評価によっても、上記判定1と同様の効果と、優れた使用感とが確

認された。

【0058】〔実施例1〕下記の組成の乳液を常法によ

り製造した。

ホホバオイル	4 g
オリーブオイル	2 g
スクワラン	2 g
セタノール	2 g
モノステアリン酸グリセリル	2 g
ポリオキシエチレンセチルエーテル (20E.0)	2.5 g
グリチルリチン酸ジカリウム	0.3 g
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (20E.0)	2 g
1, 3-ブチレングリコール	3 g
パラオキシ安息香酸メチル	0.15 g
酢酸トコフェロール	0.05 g
油溶性甘草エキス (ロシア産甘草)	0.05 g
アスコルビン酸リン酸マグネシウム	3 g
水素添加大豆リン脂質	1 g
ヒアルロン酸	0.02 g
香料	0.05 g
試料 c	0.1 g
試料 e	1 g
精製水	残部 (全量を100 gとする)

【0059】〔実施例2〕下記組成の化粧水を常法によ* *り製造した。

グリセリン	3 g
1, 3-ブチレングリコール	3 g
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (20E.0)	0.5 g
パラオキシ安息香酸メチル	0.15 g
クエン酸	0.1 g
クエン酸ソーダ	0.1 g
油溶性甘草エキス	0.5 g
オタネニンジンエキス	0.3 g
酵母抽出液	0.5 g
アロエ抽出液	0.5 g
マロニエ抽出液	0.2 g
小麦セラミド	0.1 g
加水分解コンキオリン	0.2 g
シルク加水分解物	0.2 g
キトサン	0.05 g
香料	0.05 g
試料 a	0.2 g
試料 e	2 g
精製水	残部 (全量を100 gとする)

【0060】〔実施例3〕下記組成のクリームを常法に※ ※より製造した。

流動パラフィン	5 g
サラシミツロウ	4 g
セタノール	3 g
スクワラン	10 g
ラノリン	2 g
ステアリン酸	1 g
アスコルビン酸マグネシウム	0.5 g
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (20E.0)	1.5 g
モノステアリン酸グリセリル	3 g

13

14

1, 3-ブチレングリコール
 パラオキシ安息香酸メチル
 酢酸トコフェロール
 グラブリジン
 アスコルビン酸
 グリチルレチン酸ステアリル
 オウゴン抽出液
 ソウハクヒ抽出液
 プラセンタエキス
 香料
 試料c
 試料e
 精製水

6 g
 1. 5 g
 0. 02 g
 0. 02 g
 0. 05 g
 0. 2 g
 0. 4 g
 0. 4 g
 2. 0 g
 0. 1 g
 0. 1 g
 1 g

残部（全量を100gとする）

【0061】〔実施例4〕下記組成のパックを常法により* *り製造した。

ポリビニルアルコール 15 g
 ポリエチレングリコール 3 g
 プロピレングリコール 7 g
 エタノール 10 g
 パラオキシ安息香酸エチル 0. 05 g
 トコフェノール 0. 5 g
 グリチルレチン酸 0. 2 g
 リボフラビン 0. 1 g
 乳酸菌培養物 0. 5 g
 リコカルコンA 0. 05 g
 クエン酸 0. 1 g
 クエン酸ナトリウム 1 g
 メリッサ抽出液 0. 5 g
 クジン抽出液 0. 2 g
 イチョウ抽出液 0. 2 g
 コラーゲン 0. 3 g
 エラスチン 0. 2 g
 香料 0. 05 g
 試料e 5 g
 精製水 残部（全量を100gとする）

【0062】〔実施例5〕下記の混合物を打錠して、錠※ ※剤状の栄養補助食品とした。

試料b 50重量部
 粉糖（ショ糖） 188重量部
 グリセリン脂肪酸エステル 12重量部

【0063】〔実施例6〕下記の混合物を顆粒状に形成★ ★して、栄養補助食品とした。

試料a 34重量部
 ビートオリゴ糖 1000重量部
 ビタミンC 167重量部
 ステビア抽出物 10重量部

【0064】

【発明の効果】本発明によれば、真皮層線維芽細胞におけるコラーゲンの産生を促進することのできるコラーゲン産生促進剤、皮膚の老化防止または改善を図ることの

できるエストロゲン様作用剤、コラーゲン産生促進作用および／またはエストロゲン様作用を有する皮膚化粧品、ならびにエストロゲン様作用を有する美容食品が得られる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	ターム(参考)
A 6 1 P 17/16		A 6 1 P 17/16	
43/00	1 0 7	43/00	1 0 7

F ターム(参考) 4B018 LE01 MD61 ME10 ME14 MF01
 4C083 AA032 AA072 AA082 AA111
 AA112 AA122 AC022 AC072
 AC102 AC122 AC182 AC242
 AC302 AC422 AC442 AC482
 AC642 AC842 AD042 AD112
 AD322 AD332 AD412 AD432
 AD452 AD512 AD532 AD572
 AD632 AD642 AD662 CC04
 CC05 CC07 DD23 DD31 DD41
 EE12
 4C088 AB26 AC05 BA08 CA05 CA06
 MA63 NA14 ZA89 ZB22 ZC11